

ВЛИЯНИЕ АНТИТЕЛ К ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЕ НА ПОЛОВОЕ ПОВЕДЕНИЕ КРЫС-САМЦОВ В УСЛОВИЯХ СЕЗОННОГО УГНЕТЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

Т.Г.Боровская, О.П.Лоскутова, О.И.Эпштейн*, М.С.Зак*

НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН; *НПФ «Материя Медика Холдинг», Москва

Пятикратное внутривенное введение крысам-самцам, находящимся в условиях сезонного угнетения репродуктивной функции, гомеопатических доз антител к NO-синтазе вызывало активацию полового поведения животных — увеличение у них общего количества садок и спариваний как по сравнению с таковым при предварительном тестировании тех же животных, так и по сравнению с контролем, что свидетельствует об улучшении копулятивной функции, выражающемся в возникновении потребности в повторных коитусах.

Ключевые слова: антитела к NO-синтазе, половое поведение крыс-самцов, сезонное угнетение репродуктивной функции, сверхмалые дозы

Распространенность эректильной дисфункции той или иной степени выраженности среди мужчин в возрасте 40-70 лет составляет 40%, и в ближайшее время, согласно прогнозам, количество пациентов, страдающих этой патологией, будет неуклонно расти [6]. В комплексной терапии эректильных расстройств используют несколько групп фармакологических препаратов, из которых наибольшее распространение получили вещества, влияющие на сосудистый тонус половых органов [2], в частности, препарат силденафил цитрат (виагра, "Pfizer") [7]. Действующее вещество виагры повышает содержание цГМФ в гладких мышцах кавернозного тела при сексуальной стимуляции посредством избирательного блокирования фосфодиэстеразы 5-го типа, что усиливает расслабляющее влияние оксида азота (NO) на эту ткань. Необходимо отметить, что несмотря на высокую эффективность препарата его применение в ряде случаев вызывает побочные эффекты в виде головных болей, приливов крови к лицу, диспепсии, нарушения световосприятия. Кроме того, использование виагры противопоказано больным, получающим донаторы NO или нитраты в любых формах [5,7].

Целью настоящей работы явилось изучение эффективности препарата, содержащего смесь гомеопатических разведений C12+C30+C200 (эквивалентная концентрация 10^{-24} , 10^{-60} и 10^{-400} мас-

совых долей соответственно) аффинно очищенных антител (потенцированных антител — ПАТ) к человеческой эндотелиальной NO-синтазе (NOS) в отношении стимуляции половой активности животных, находящихся в условиях сезонного угнетения репродуктивной функции.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 17 белых беспородных крысах-самцах (возраст 4 мес, масса 400 г), из них 8 самцов составили контрольную группу. Животные получены из Лаборатории экспериментального биомоделирования НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН. Содержание крыс осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986), в стандартных условиях вивария в пластиковых клетках (не более 15 особей в каждой) с мелкой древесной стружкой; животные получали гранулированный корм ПК 120-3. Эксперименты проводили в зимнее время (январь), когда у грызунов наблюдается снижение концентрации тестостерона в крови, в связи с чем они характеризуются половой гипофункцией, обусловленной сезонной биологической депрессией [8]. Парное половое поведение животных изучали в вечернее время су-

ТОК
нов
вали
нахо
вали
тыре
рас
Фаз
ците
ков
вое
чал
ден
пол
сам
ки,
шее
Пос
лил
лов
дил
дне
пы
тел
C12
вве
рое

чес
Ма

РЕ

Пос
ной
чис
сто
и к
с п
ных
ном
отм
сра
тир
зат
пр
жив
вед
ное
нен

ток — с 17.00 до 21.00 ч, когда уровень андрогенов в крови наиболее высок [8]. Самцов ссаживали с интактными самками (в соотношении 1:1), находящимися в стадии эструса, которую вызывали искусственно путем предварительного четырехкратного внутримышечного введения 0.01% раствора фолликулина в дозе 0.5 мг/кг в сутки. Фазу полового цикла контролировали с помощью цитологического исследования вагинальных мазков [3]. Влияние ПАТ к NOS на парное половое поведение экспериментальных животных изучали в открытом поле по методике [1]. Наблюдения проводили в затемненном помещении в полной тишине. В течение 15 мин для каждого самца регистрировали латентный период (ЛП) садки, количество ухаживаний (обнюхиваний), общее количество садок, количество спариваний. После исходного тестирования животных разделили на 2 группы, сходные по показателям половой активности. Самцам опытной группы вводили внутрижелудочно ПАТ к NOS в течение 5 дней по 1.5 мл/крысу, самцы контрольной группы получали эквивалентное количество растворителя (потенцированная дистиллированная вода С12+С30+С200 — ПДВ). По окончании курса введения ПАТ к NOS или ПДВ осуществляли второе тестирование.

Полученные данные обрабатывали статистически с помощью непараметрического критерия Манна—Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

После 5 введений ПАТ к NOS у животных опытной группы достоверно снизились ЛП садки и число ухаживаний; в то же время наблюдалось достоверное увеличение количества садок (в 2 раза) и количества спариваний (в 3 раза) по сравнению с показателями, полученными у этих же животных до введения препарата (таблица). При повторном тестировании животных контрольной группы отмечалось достоверное снижение лишь ЛПС по сравнению с таковым при предварительном тестировании, следовательно, снижение этого показателя в опытной группе не связано с действием препарата, а обусловлено, очевидно, приобретением животными определенных навыков полового поведения. В опытной группе отмечалось достоверное увеличение копулятивной активности по сравнению с контролем: так, количество садок досто-

Влияние ПАТ к NOS на половое поведение крыс-самцов (M±m)

Показатель	До обработки		После обработки	
	контроль	опыт	ПДВ (n=8)	ПАТ к NOS (n=9)
ЛП садки, с	94.2±19.8	91.0±28.5	47.1±25.5*	35.8±10.5*
Количество ухаживаний	10.1±1.5	9.8±1.5	5.4±1.5	4.4±0.4*
Количество садок	11.9±2.6	12.0±2.8	15.6±2.5	24.1±3.1**
Количество спариваний	1.4±0.5	1.5±0.4	2.5±0.7	4.4±0.5**

Примечание. p<0.05: *по сравнению с показателями до обработки, **по сравнению с группой ПДВ.

верно увеличилось в 1.5 раза, а количество спариваний — в 2 раза.

Таким образом, 5-кратное введение крысам-самцам ПАТ к NOS вызывало активацию полового поведения животных, что выражалось в увеличении общего количества садок и спариваний как по сравнению с таковыми при предварительном тестировании, так и по сравнению с контролем. На фоне применения ПАТ к NOS наблюдается улучшение копулятивной функции, выражающееся в возникновении потребности в повторных коитусах. Снижение количества ухаживаний, отмеченное у животных опытной группы, обусловлено, очевидно, их более высокой копулятивной активностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М., 1991. С. 146-149.
2. Гавей М.Д., Галенко-Ярошевский П.А., Петров В.И. и др. Фармакотерапия с основами клинической фармакологии. Волгоград, 1996.
3. Кабак Я.М. Практикум по эндокринологии. М., 1968.
4. Мазо Е.Б., Дмитриев Д.Г., Гамидов С.И. // Урология. 2000. № 3. С. 32-34.
5. Мельников А. // Ремедиум. 1998. № 4. С. 35.
6. Feldman H.A., Goldstein I., Hatzichristou D.G. et al. // J. Urol. 1994. Vol. 151. P. 54-61.
7. Goldstein I., Lue T.F., Padma-Nathan H. et al. // N. Engl. J. Med. 1998. Vol. 338. P. 1397-1404.
8. Willings I.P. Animals hormones in experiments. N.Y., 1992. P. 472.

ISSN 0365-9615

**БЮЛЛЕТЕНЬ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
БИОЛОГИИ
И МЕДИЦИНЫ**

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

2001

IMPACT OF ANTIBODIES TO ENDOTHELIAL NO-SYNTHASE ON SEXUAL BEHAVIOR OF MALE RATS IN CONDITIONS OF SEASONAL SUPPRESSION OF REPRODUCTIVE FUNCTION

T.G.Borovskaya, O.P.Loskutova, O.I.Epshtein, M.S.Zak

Scientific–Research Institute of pharmacology of Tomsk scientific center
of Siberian department of RAMS, Research and
Production Company ‘Materia Medica Holding’, Moscow

Fivefold intragastric administration of homeopathic doses of antibodies to NO-synthase to male rats in conditions of seasonal suppression of reproductive function caused activation of sexual behavior of animals – total number of mounts and copulations increased in comparison with preliminary examination of the same animals as well as in comparison with results of control that showed improvement in copulatory function resulted in need of repeated coitus.

Key words: antibodies to NO-synthase, sexual behavior of male rats, seasonal suppression of reproductive function, ultralow doses.

Prevalence of more or less severe erectile dysfunction among men aged 40-70 makes 40% and the number of patients suffering from this disease will increase in the near future according to prognosis [6]. Some groups of pharmacological medications are used in the complex treatment of erectile dysfunctions, the most widely used medications are those that influence vascular tone of genital organs [6], in particular, sildenafil citrate (Viagra, “Pfizer”) [7]. The active substance of Viagra raises concentration of cyclic guanosine monophosphate in smooth muscles of cavernous body under sexual stimulation by means of selective blockage of phosphodiesterase V type, what intensifies impact of nitrogen oxide (NO) on this tissue. It should be noted that despite high efficacy of the medication, its using may in some cases cause collateral damages such as headaches, flush, dispersions, disorders of light- and colour sensation. Besides, using of viagra is forbidden for patients, taking NO donators or nitrates in any forms [5, 7].

The aim of the work is study of efficacy of medication containing mixture of homeopathic dilutions C12+C30+C200 (equivalent concentration 10^{-24} , 10^{-26} , and 10^{-400} of mass concentrations respectively) of affinity purified antibodies (potentiated antibodies – PAB) to human endothelial NO-synthase (NOS) in relation to stimulation of sexual activity of animals in conditions of seasonal suppression of reproductive function.

Research procedure

The experiments were carried out on 17 white outbred male rats (age- 4 months, weight – 400g), 8 of which entered into control set. The animals were brought from Laboratory of experimental simulation of Scientific–research institute of pharmacology of Tomsk scientific center of Siberian department of RAMS. The animals were kept according to rules of European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986), in standard conditions of animal facility in plastic cages (no more than 15 animals in each cage) with petty wooden chips; the animals got pelleted feed PK-120-3. The experiments were carried out in winter (January), when rodents face decrease of testosterone concentration in blood, which results in characteristic sexual hypofunction, associated with biological depression [8]. Paired sexual behavior was examined at night – from 17.00 to 21.00 when androgen blood level is the highest [8]. The male rats were coupled with intact females (in

1:1), in estrus stage artificially caused by preliminary fourfold intramuscular injection of 0.01% folliculin at a dose of 0.5mg/kg per day. The phase of sexual cycle was controlled with the help of cytologic screening of vaginal smears [3]. Impact of potentiated antibodies to NO on paired sexual behavior of experimental animals was studied in open field subject to the technique [1]. The animals were observed in a dark room in complete silence. During 15 minutes latent period (LP) of mount, number of courtships (sniffings), total number of mounts, number of copulations were registered for each male. After the baseline examination the animals were divided into 2 groups with similar indexes of sexual activity. The males of the experimental group were intragastrically administered potentiated antibodies to NOS for 5 days 1.5 ml/rat, males of the experimental group got equal volume of eluent (potentiated distilled water C12+C30+C200 – PDW). Second test was carried out at the end of the course of potentiated antibodies to NOS or PDW administration.

The obtained data were statistically handled with the help of nonparametric Mann-Whitney test.

Results of the research

Latent period of mounts and the number of courtships of the animals from the experimental group decreased after 5 administrations of potentiated antibodies to NOS; at the same time an increase in latent period of mount (2 times) and the number of copulations (3 times) were observed in comparison with the same animals before the administration of the medication (table). The second examination of the animals of the experimental group showed significant decrease in latent periods of mounts in comparison with the same values obtained during preliminary examination, thus reduction of LP in the experimental group is not connected with the medication action, but associated with acquisition by animals of certain skills of sexual behavior. Significant increase of copulatory activity in comparison with control was observed: the number of mounts increased by 1.5 times, the number of copulations – by 2 times.

		Before handling		After handling	
		Control	Experience	MPE (n=8)	Enhanced antibodies to NOS (n=9)
Latent period of mount	of	94.2+/-19.8	91.0+/-28.5	47.1+/-25.5*	35.8+/-10.5*
Number of courtships	of	10.1+/-1.5	9.8+/-1.5	5.4+/-1.5	4.4+/-0.4*
Number of mounts	of	11.9+/-2.6	12.0+/-2.8	15.6+/-2.5	24.1+/-3.1**
Number of copulations	of	1.4+/-0.5	1.5+/-0.4	2.5+/-0.7	4.4+/-0.5**

Note: p<0.05: * in comparison with values before handling, * in comparison with PDW group.

Thus, fivefold administration of potentiated antibodies to NO-synthase to male rats caused activation of sexual behavior of animals, which resulted in increase of total number of mounts and copulations in comparison with preliminary examination and control. On the background of potentiated antibodies to NOS, an improvement in copulatory function is observed, which results in need of repeated coitus. The decrease in number of courtships noticed in all animals of the experimental group is associated with their higher copulatory activity.

I. Buresh Y., Bureshova O., Huiston D.P. Methods and main brain and behavior experiments. M., P.146-149.

2. Gaevij M.D., Galenko-Yaroshevskij P.A., Petrov V.I. and others. Pharmacotherapy with bases of clinical pharmacology. Volgograd, 1996.
3. Kabak Y.M. Endocrinological practical course. M., 1968.
4. Mazo E.B. Dmitriev D.G., Gamidov S.I.// *Urinology*. 2000. N3. P.32-43.
5. Melnikov A.// *Remedy allowance*. 1998. N4. P.35.
6. Feldman H.A., Goldstein I., Hatzichristou D.G. et al.// *J. Urol*. 1994. Vol. 151. P. 54-61.
7. Goldstein I., Lue T.F., Padma-Nathan H. et al.// *N. Engl. J.Med*. 1998. Vol. 338. P. 1397-1404.
8. Willings I.P. *Animals hormones in experiments*. N.Y. 1992. P. 427.